

凍結魚肉の解凍条件が解凍後の魚肉に与える影響

—解凍速度と解凍魚肉タンパク質の変性度および

ドリップ流出量との相関—

The Effect of Thawing Condition for Frozen Fish Meats —The Thawing Speed Dependence on Fish Muscle Protein Denaturation and Drip Amount —

阿部 周司* 大迫 一史** 渡辺 学** 鈴木 徹**†

Shuji ABE Kazufumi OSAKO Manabu WATANABE Toru SUZUKI

*東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科応用生命科学専攻 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

Course of Applied Marine Biosciences, Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science Technology (4-5-7, Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

**東京海洋大学食品生産科学科 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology (4-5-7, Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

Summary

The influence of thawing speed on denaturation of muscle protein and quality of several kinds frozen fish meat was studied by measuring Ca-ATPase activity, drip loss, and microscopic observation. Frozen bigeye tuna, chub mackerel, alaska pollack and yellow tail meat thawed at 10°C by air (slow thawing) and water (rapid thawing). Ca-ATPase activity of slow thawed fishes meat decreased than it of rapid thawed fishes meat. On the other hand drip loss of slow thawed fishes meat increased than it of rapid thawed fishes meat. Decreasing of Ca-ATPase activity showed a good linear relation to increasing of drip loss. Further, from microscopic observation, it was confirmed that muscle cells of slow thawed fishes meat were disrupted than it of rapid thawed samples. Therefore, it was suggested that rapid warming on thawing process is better to inhibit protein denaturation and drip loss.

Keywords : Frozen food, Drip, Thawing, Ca-ATPase activity, Muscle cell

1. 緒言

凍結された食品のほとんどは解凍プロセスをたどり消費される。そのため、解凍技術は良質な製品

を得るために重要な技術である¹⁾。特に、冷凍水産物はわが国の凍結食品の供給量の多くを占めているために²⁾、それらの解凍プロセスはきわめて重要な工程であると考えられる。しかし、凍結技術に比

†Fax: 03-5463-0585 E-mail: toru@kaiyodai.ac.jp

べると、解凍技術の研究は遅れがちであるために²⁾、現場では経験的な解凍処理が行われている。

空気解凍法や流水解凍などの伝導伝熱による解凍の場合、品質に影響を与えられる要素には、解凍終温および解凍速度が挙げられる³⁾。解凍終温については、できるだけ低く、さらに、細菌学的見地からは5°C以下であることが望ましいとされている^{4,5)}。解凍速度に関する研究については異なる見解がある。畜肉ではあるが、Ngapoら⁶⁾は凍結豚肉について解凍速度を変えてドリップ流出量の測定を行った結果、解凍速度によってドリップ量の差はほとんど生じないことを報告している。一方、Gonzalez-Sanguinettiら⁷⁾は牛肉について、緩慢解凍を行うことで、解凍時のドリップロスを抑えることができると報告している。また、凍結魚肉の解凍に関しては福田らが緩慢解凍ではマサバ筋原線維のCa-ATPase比活性値が急速解凍に比べ低下することを報告したが⁸⁾、他の魚種についての報告はほとんどされていない。魚肉の筋原線維タンパク質は生息環境水温によって、その熱安定性が異なるとされており⁹⁾、同一温度での凍結保存中におけるタンパク質の変性進行速度もそれにおおよそ対応するとされている^{10,11)}。ゆえに、

解凍中においても魚種の違いによって変性進行速度が異なり、解凍後の品質が左右される可能性が考えられる¹⁰⁾。

そこで、本研究ではメバチマグロ *Thunnus obesus* およびマサバ *Scomber japonicus* に加え、タンパク質の変性しやすいスケトウダラ *Theragra chalcogramma* さらにブリ *Seriola quinqueradiata* の4魚種を用いて、解凍速度が魚肉タンパク質および解凍後の品質に与える影響について比較した。

2. 実験方法

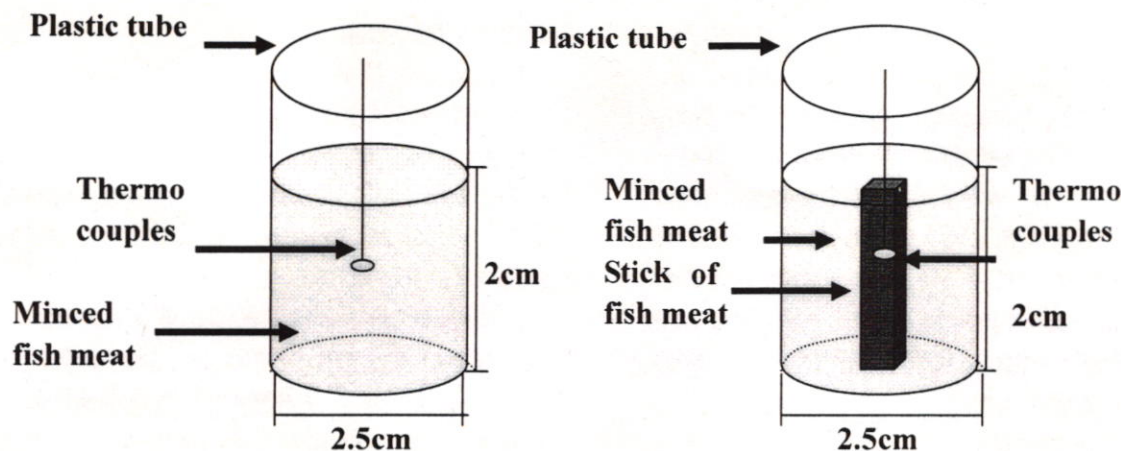
2.1 試料調製および凍結解凍実験

試料は未凍結のスケトウダラ (*Theragra chalcogramma*)、メバチマグロ (*Thunnus obesus*)、マサバ (*Scomber japonicus*)、ブリ (*Seriola quinqueradiata*) の4魚種を用いた。各魚種の産地、漁獲から試料調製までに要した日数、体長、重量をTable 1に示す。ただし、メバチマグロに関してはすでにブロック状にされた未凍結のものを購入したため、体長および重量は不明であった。そのため、産地と漁獲から試料調製までに要した日数のみを記す。

Table 1 Date of captured, landing area and characteristics of sample fishes.

Species	Date of capture	Landing area	Duration from capture to sample preparation	Total length (cm)	Weight (g)
Chub mackerel	18th, Dec. 2007	Ishinomaki	2days	43*	890*
	21st, Jan. 2008	Kyoto	2days	41*	640*
Alaska Pollack	12th, Dec. 2007	Abashiri	2days	45*	690*
	19th, Jan. 2008	Abashiri	2days	50*	730*
Bigeye tuna	13th, Dec. 2007	Choushi	1day	—	—
	26th, Jan. 2008	Choushi	1day	—	—
Yellow tail	16th, Dec. 2007	Bingo	2days	92	9200
	29th, Jan. 2008	Kagoshima	1day	65*	3500*

(*: Average of 4samples)



A : For Ca-ATPase activity measurement.

B: For drip loss measurement and microscopic observation.

Fig. 1 Sample and tubes used for freezing and thawing experiment.

試料の調製は 10℃の冷蔵室内で行い、未凍結試料の背肉を約 1 cm × 1 cm × 2 cm のスティック状に切り出し、残りの肉はミンチ肉にした。まず、Ca-ATPase 比活性測定用の試料は Fig.1A のようにサンプル管の高さ 2 cm 部分までミンチ肉を充填し、サンプル管内に凍結時に用いるエタノールバス中のエタノールの混入を防ぐため、蓋の部分にテープを巻いて密封した。筋組織観察およびドリップ率測定用の試料はスティック状にした背肉をサンプル管に Fig.1B のように入れ、Ca-ATPase 比活性測定用試料と同様の凍結条件および解凍条件（伝熱条件）にするため、管内空洞部にミンチ肉を充填した。このように作製したサンプル管試料をドライアイスを用いて約 -70℃に冷却したエタノールバスに浸漬させて同一条件で凍結させた。

試料の解凍に関しては、急速解凍の場合、攪拌されている 10℃の流水中で浸漬解凍した。また、緩慢解凍としては、10℃の冷蔵室内で試料を断熱材（発泡スチロールシート）で 5 重に巻き、さらに同様の断熱材を 5 重に敷き詰めた発泡スチロール箱内に入れて蓋を閉めて解凍した。なお、本実験では解凍終温は急速解凍、緩慢解凍共に 5℃とした。実験中の試料の温度履歴は、凍結前に生の状態のスティック状の試料二つ（緩慢解凍用および急速解凍用）の中心部に熱電対を差込み、凍結時および解凍時の温度変化を測定した。また、Ca-ATPase 比活性測定に用

いたミンチ状試料も同様、中心部に熱電対を差込み、凍結時および解凍時の温度変化を測定した。

2.2 筋原線維の調製および Ca-ATPase 比活性の測定

筋原線維（以降 Mf と略す）の調製は加藤らの方法¹²⁾に準じて行った。すなわち、解凍したそれぞれの魚種のミンチ肉を約 5g とり、0.1M KCl 20mM Tris-HCl buffer (pH 7.5) に対する Mf 懸濁液とした。

Mf 懸濁液を 0.1M KCl, 5mM CaCl₂, 25mM Tris-maleate (pH 7.0), 1mM ATP の条件下において 25℃で 5 分間反応させた。反応の停止には 15%PCA を用い、ATP から遊離した無機リン酸量を比色定量した。また、この反応は一次反応であるため、生成した無機リン酸量から基質濃度（この場合 ATP の濃度）の対数値を求め、反応時間とその傾きから一次反応式を用いて、Ca-ATPase 比活性の値を算出した。このようにして求めた未凍結試料の Ca-ATPase 比活性値を 100%として、緩慢解凍および急速解凍した試料の Ca-ATPase 比活性値を未凍結試料に対する百分率で算出した。なお、懸濁した Mf のタンパク質濃度は、bovine serum albumin fraction V を標準タンパクとして検量線を作成し、ビウレット法¹³⁾を用いて測定した。

2.3 筋組織観察

解凍したそれぞれの魚種のスティック状の試料

を10%ホルマリンエタノール溶液に5日間以上浸漬して組織を固定した後、ゼラチン包埋を施した。ゼラチン包埋した試料は10%ホルマリン水溶液に入れ、冷蔵庫で一晩放置した。炭酸氷結マイクローム(エルマ製)を用いて切片を作製し、1%エオシンY液で染色した。染色した切片を光学顕微鏡(リンカム社製 試料冷却加熱観察装置 型番:LK-600PMS)で観察し、デジタルカメラ(株式会社NIKON製 型番:COOLPIX 4500)で写真観察を行った。

2.4 ドリップ率測定

解凍したそれぞれの魚種のスティック状試料約2gをスポンジをつめた遠沈管(13mmφ)に入れ、4°Cの雰囲気温度下で2500rpm(850g)で15分間遠心分離を行い、遠心分離前と遠心分離後の試料の重量変化を求め、それを遠心分離前の試料重量で割り、それに100を掛けてドリップ率(%)を算出した。

3. 実験結果

3.1 凍結・解凍所要時間および最大氷結晶生成

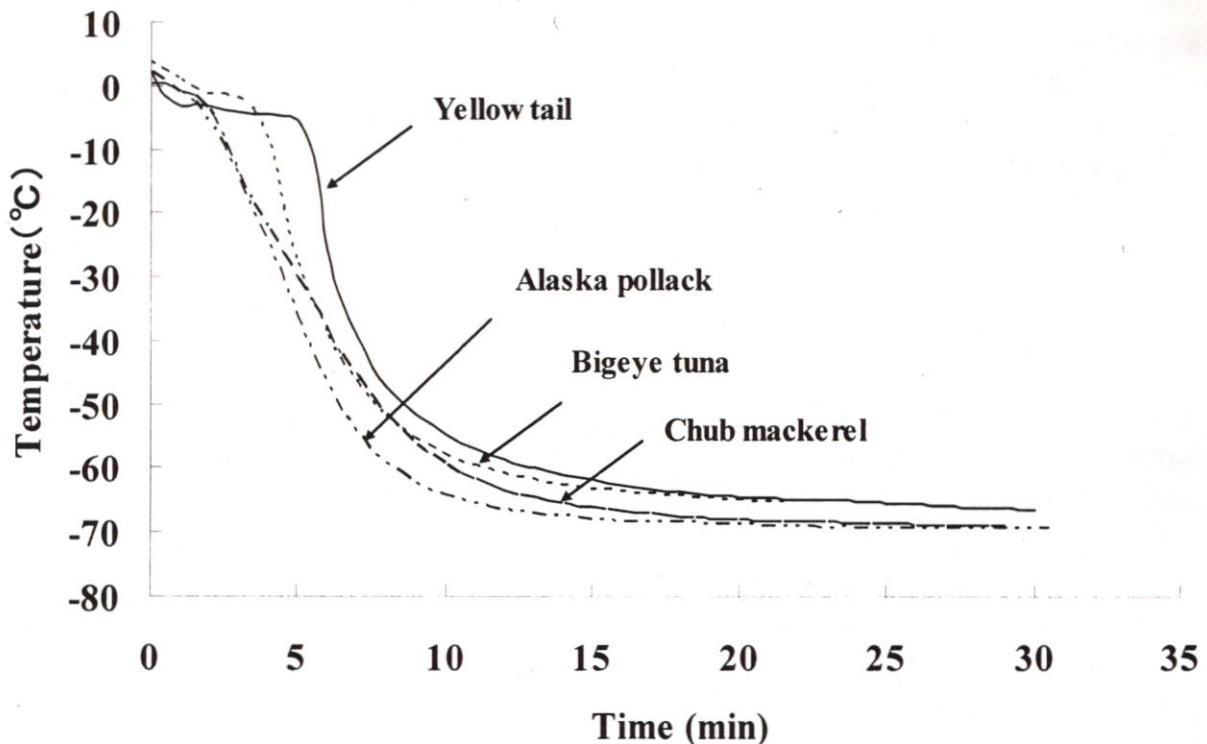


Fig. 2 Freezing curves of minced meat samples for 4 kinds of fish.

帯通過速度の確認

Fig.1A および B に示したように、作成したサンプル管内の試料の温度を測定した。ここでは Fig.1A のミンチ試料の凍結曲線および解凍曲線を Fig.2 および 3 にそれぞれ示す。Fig.2 の結果から、いずれの試料の場合においても、8~13 分以内に -60°C に達した。また、Fig.3 の結果から、緩慢解凍および急速解凍に要する時間は、緩慢解凍が 420 分から 700 分、急速解凍が 40 分から 60 分であり、緩慢解凍と急速解凍の解凍所要時間の差は約 10 倍であった。さらに、これらの結果をもとに、凍結および解凍時の最大氷結晶生成温度帯(-1°C ~ -5°C)を通過する時間で割った値をそれぞれ凍結速度および解凍速度と定義し、それらを Table 2 に示した。

Table 2 から、凍結時の最大氷結晶生成帯の通過速度はそれぞれの魚種で大きな違いはみられなかった。また、緩慢解凍と急速解凍の最大氷結晶生成帯の通過速度の差は約 13~20 倍であった。ここでは示さないが、ドリップ率測定および筋組織観察用試料(Fig.1B)の凍結および解凍時間もミンチ試料とほぼ同じであった。

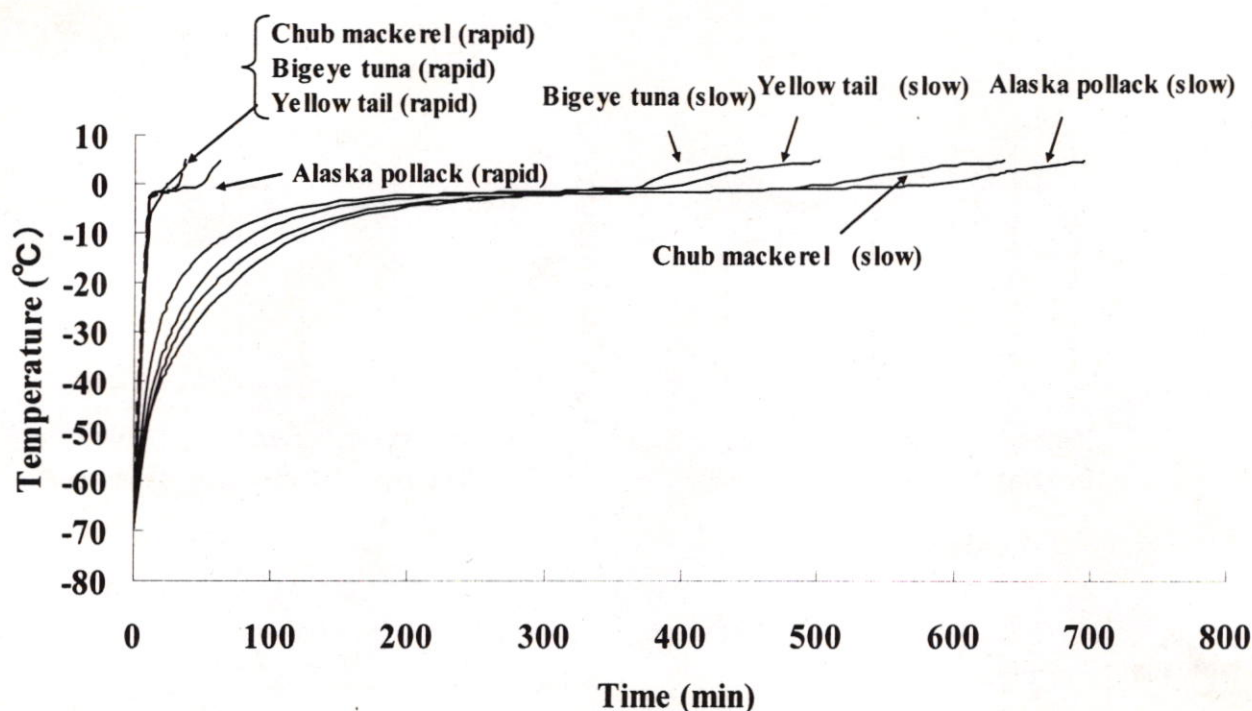


Fig. 3 Thawing curves of minced meat samples for 4 kinds of fish.

Table 2 Freezing rate and thawing rate of minced meat samples for 4 kinds of fish.

Species	Freezing rate	Slow thawing rate	Rapid thawing rate
	[°C/min]	[°C/min]	[°C/min]
Chub mackerel	1.2	1.4×10^{-2}	0.28
Alaska pollack	1.6	1.5×10^{-2}	0.21
Bigeye tuna	2.4	1.7×10^{-2}	0.26
Yellow tail	1.5	1.4×10^{-2}	0.19

3.2 解凍速度の違いによる Ca-ATPase 比活性変化

未凍結試料，急速解凍および緩慢解凍した試料それぞれの Ca-ATPase 比活性の測定結果を Fig. 4 に示す。急速解凍と緩慢解凍間において，ブリの Ca-ATPase 比活性の差はほとんどみられなかったが，メバチマグロでは 24%，マサバでは 31%，スケトウダラでは 10%であった。これらの結果から，ブリを除いた 3 魚種においては，緩慢解凍では急速解凍に比べ，魚肉タンパク質の変性が大きく，その順はマサバ，メバチマグロ，スケトウダラ，ブリとなった。一方で，未凍結試料と急速解凍後の試料間におけるタンパク質変性の進行は，メバチマグロ，マサバに比

ベスケトウダラ，ブリの方が大きかった。よって，スケトウダラ，ブリでは急速・緩慢解凍時に差が見られなかったが，これは，それらの魚種が凍結の段階ですでにタンパク質変性が進行していたためと考えられる。

3.3 解凍速度の違いが筋組織に与える影響

解凍後の試料それぞれの筋組織観察の結果を Fig.5~Fig.8 に示す。緩慢解凍した試料と急速解凍した試料を比べると，検討した 4 魚種ともに緩慢解凍した試料の筋組織の損傷がみられた。すなわち，細胞内に見られる孔が大きくなり，また，多くなっていた。特に，マサバおよびメバチマグロでは，その傾向は顕著であった。また，これは Ca-ATPase 比活性測定結果によく対応した。

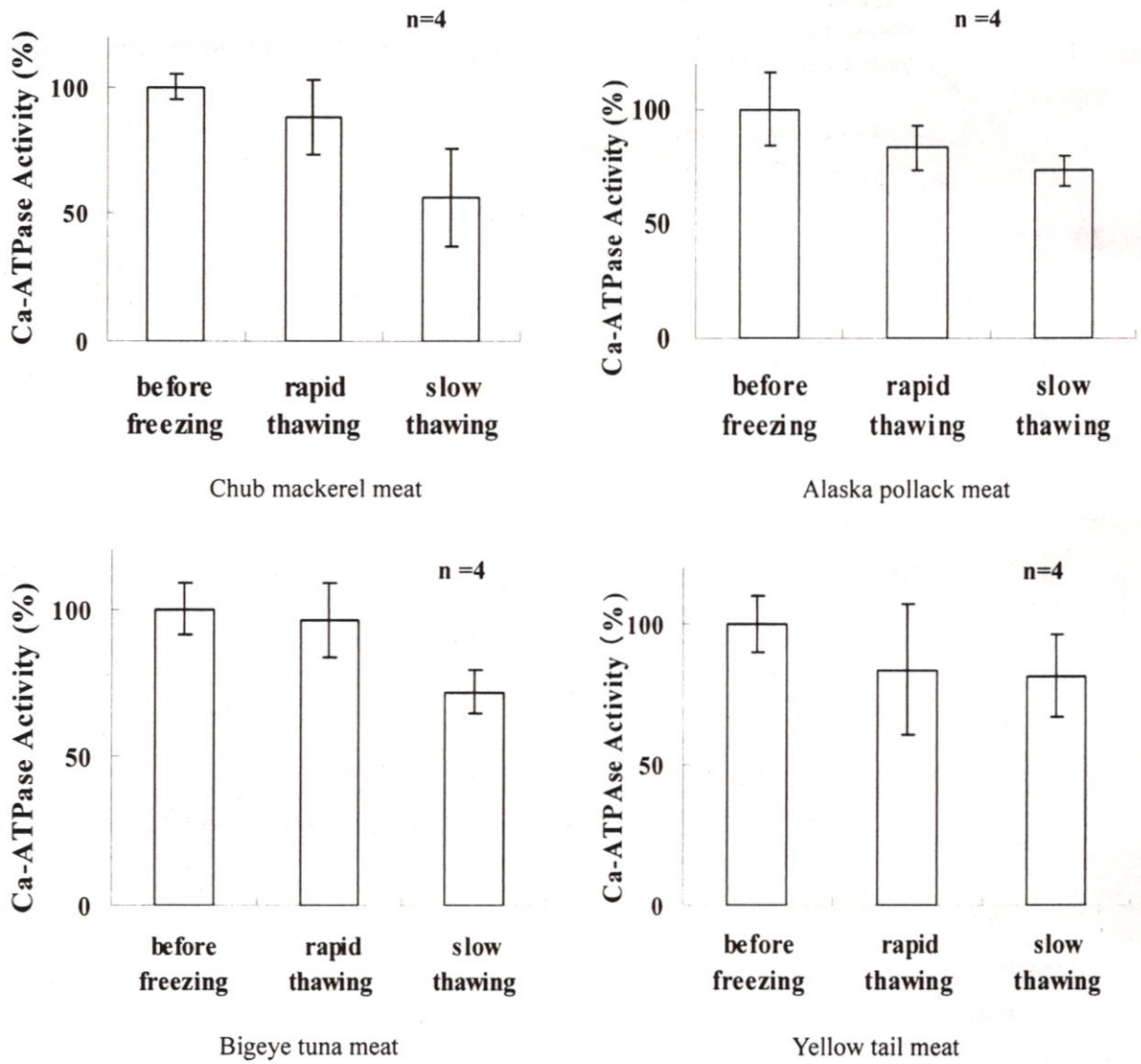
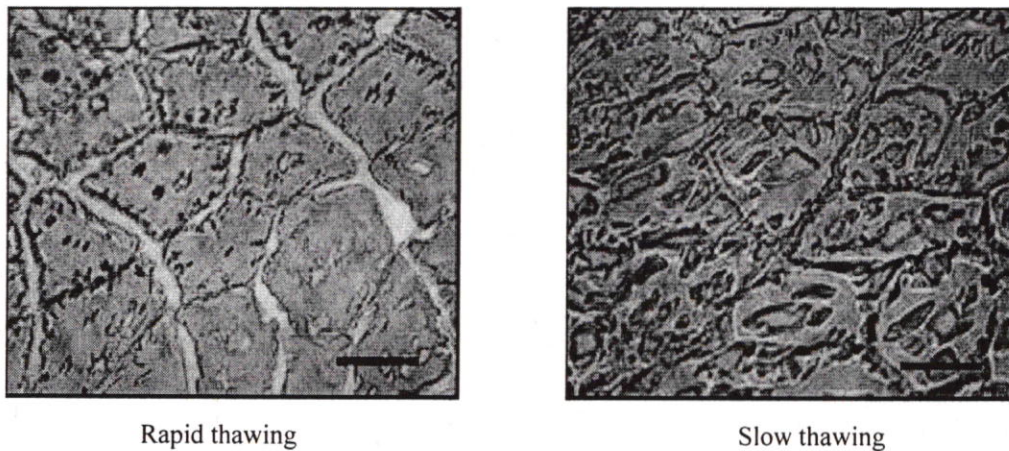


Fig. 4 Changes in myofibrillar Ca-ATPase activity.

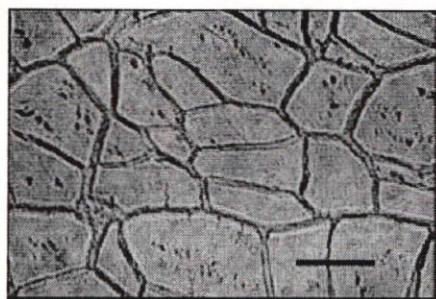


Rapid thawing

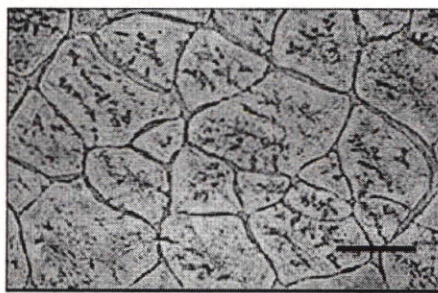
Slow thawing

Fig. 5 Muscle cell of chub mackerel meat after thawing.

Scale Bar = 100µm

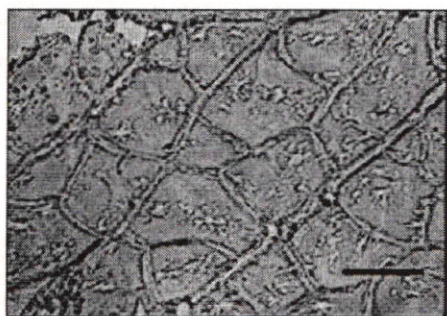


Rapid thawing

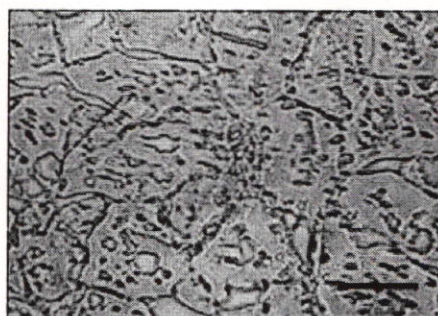


Slow thawing

Fig. 6 Muscle cell of alaska pollack meat after thawing.

Scale Bar = 100 μ m

Rapid thawing



Slow thawing

Fig. 7 Muscle cell of bigeye tuna meat after thawing.

Scale Bar = 100 μ m

Rapid thawing



Slow thawing

Fig. 8 Muscle cell of yellow tail meat after thawing.

Scale Bar = 100 μ m

3.4 解凍速度の違いがドリップ率に与える影響

Fig. 9 に未凍結試料, 急速解凍および緩慢解凍したマサバ, スケトウダラ, メバチマグロおよびブリそれぞれの遠心ドリップ率測定結果を示す。これらの結果から, 本実験で用いた全魚種において, 緩慢解凍後の試料のドリップ率は急速解凍後の試料に比べて高くなることがわかった。ただ, スケトウダラおよびブリでは緩慢

解凍と急速解凍間でのドリップ率の差は 1.1%~1.2%と少なかったが, メバチマグロおよびマサバではその差が 2.3%~3.5%と大きかった。しかし, 未凍結試料と急速解凍後の試料のドリップ率の差はメバチマグロおよびマサバでは 1.3%~3.2%であったのに対してスケトウダラおよびブリでは 4.2%~5.1%であった。この結果もまた, 組織変化と同様, Ca-ATPase 比活性の結果とよく対応した。

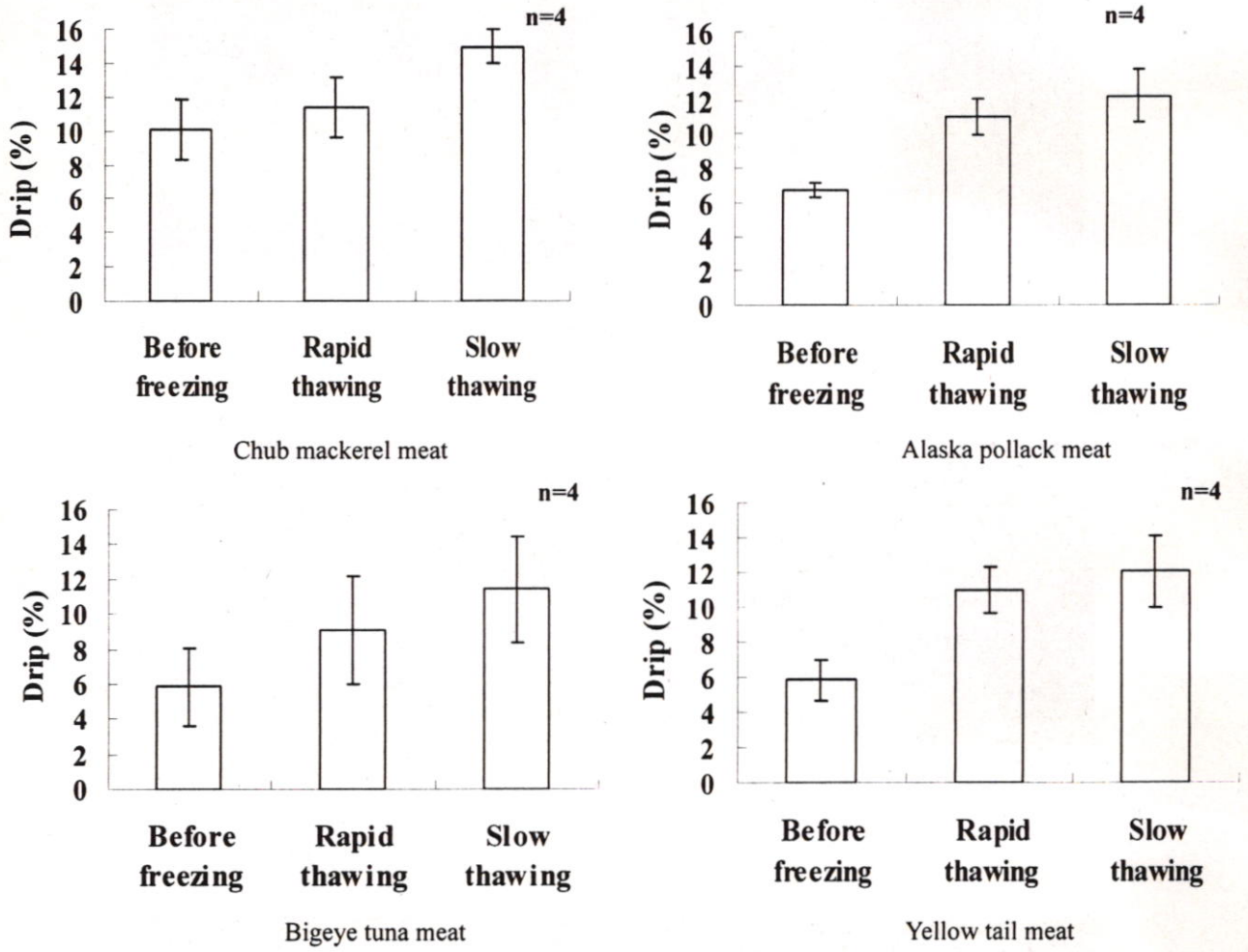


Fig. 9 Change in drip loss. (n=4)

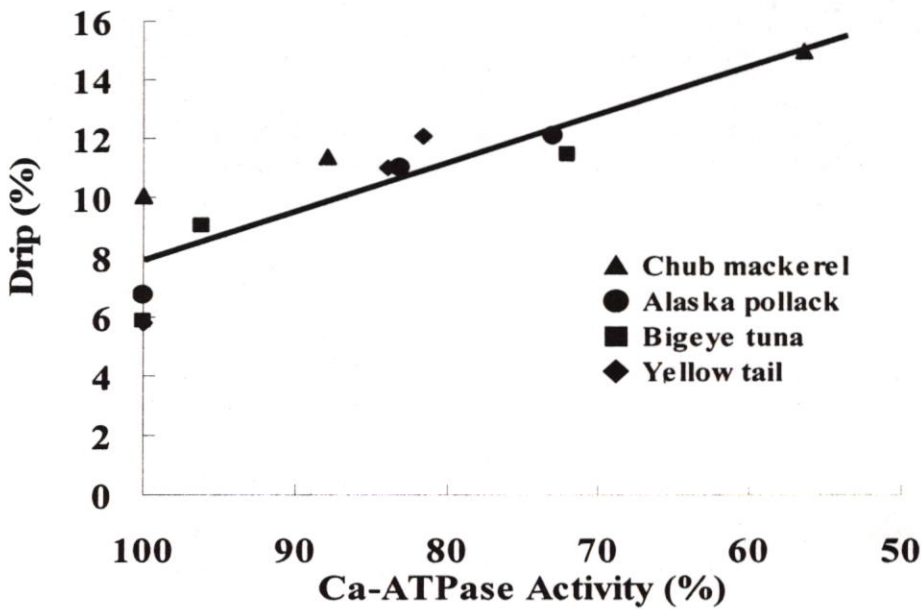


Fig. 10 Relationship between Ca-ATPase Activity (%) and drip loss (%) of fish meat after thawing. (P<0.05)

4. 考察

解凍速度の違いによる Ca-ATPase 比活性の変化はブリにおいては差がほとんどなかったが、マサバおよびメバチマグロは緩慢解凍することによって、Ca-ATPase 比活性は大きく低下した。すなわち、緩慢解凍では急速解凍に比べて解凍中に魚肉中のタンパク質が変性することが明らかになった。また、筋組織観察の結果からも、緩慢解凍した試料は急速解凍した試料のそれに比べて筋組織は損傷していた。これは Ca-ATPase 比活性およびドリップ率の測定結果とよく対応した。このことから、解凍中に魚肉中のタンパク質の変性に伴い筋線維タンパク質の不可逆的凝集が生じ、筋繊維は水を保持できなくなると考えられる。結果として、解凍終了後においても魚肉は凍結前の筋組織の構造を復元できず、ドリップが多く流出すると考えられる。

各魚種における Ca-ATPase 比活性 (Fig.4 の結果) とドリップ率 (Fig.9 の結果) の関係をまとめたものを Fig.10 に示す。Fig.10 の直線は有意に回帰しているため、Ca-ATPase 比活性の低下とドリップ率の増加の間には相関関係があることがわかる。この結果からも、解凍中のタンパク質変性の程度と解凍後に生じるドリップの流出量は密接に関係していることが裏づけられた。

筋組織観察、Ca-ATPase 比活性測定、ドリップ率測定の結果、いずれにも見られたように、解凍速度が品質に与える影響は魚種によって異なっていた。その一方で、未凍結試料と急速解凍試料の結果を対比させて考えると、解凍速度による品質劣化の差が小さかった魚種はすでに凍結過程にダメージを受けていた。反対に凍結過程におけるダメージがそれほど大きくなかった魚種は、解凍時に品質劣化の差が大きくなると思われる。つまり、本実験で用いたスケトウダラのようなタンパク質の熱安定性が低く、凍結に対して耐性の低い魚種に関しては⁵⁾、凍結の時点で魚肉の品質がかなり低下しているため、解凍による差は生じにくいと考えられた。その一方で、凍結に対して耐性を持つ魚種に関しては、解凍による差が生じやすいと考えられた。

5. 結言

本研究では解凍速度に着目して、解凍速度が魚肉の品質に与える影響について調べ、さらにそれを魚種間で比較し、魚種によって解凍速度を変える必要があるかどうかを検討した。品質を評価する指標には筋組織観察およびドリップ率の測定を用いた。さらに、解凍前後のタンパク質変性を調べるために Ca-ATPase 比活性の測定を行った。

その結果、急速解凍は緩慢解凍に比べて冷凍魚介類の品質の劣化を抑制する傾向がみられたが、その傾向は魚種によって異なることが示唆された。つまり、魚種によっては解凍速度を変えることで高品質な解凍品を得られる可能性が見出された。

ただし、本研究で用いたドリップの測定方法は遠心分離法を用い、試料中のドリップを強制的に搾り出して測定しているため、自然に出てくるドリップは本研究では測定していない。強制的に得られるドリップと自然に得られるドリップの結果の違いについては今後の課題として挙げたい。

6. 参考文献

- 1) 横井厚:食肉の科学, 44 (1), 126 (2003).
- 2) 田中武夫:冷凍, 66 (769), 1175 (1991).
- 3) 田中宗彦:食品と容器, 47 (5), 273 (2006).
- 4) 鴻巣章二, 須山三千三 編:「水産食品学」, p. 42, 恒星社厚生閣, 東京, (1989).
- 5) 太田冬雄 編:「水産加工技術」, p. 42, 恒星社厚生閣, 東京, (1980).
- 6) T.M.Nagapo, I.H.Babare, J.Reynolds, and R.F.Mawson: Meat Sci, 53 (3), 149 (1999) .
- 7) S.Gonzalez-Sanguinetti, M.C.Anon, and A.Clvelo: J.Food.Sci, 50 (3), 697 (1985).
- 8) 福田裕, 和田律子, 福島英登:平成 19 年度冷空講論, pp. 379-380, 東京 (2007.10).
- 9) 橋本昭彦, 小林章良, 新井健一:日水誌 48(5), 671(1982).
- 10) 新井健一:冷凍, 62 (722),1278 (1987).
- 11) 福田裕「水産加工とタンパク質の変性制御」, pp. 9-16 初版(新井健一編), 恒星社厚生閣, 東京 (1991).
- 12) 加藤登, 内山均, 塚本志郎, 新井健一:日水誌,

43 (7), 857 (1977).

- 13) A.G.Gornall, S.S.Bardawill, and M.M.David :
J.Biol.Chem., 177(2),751(1949).